

Aus dem Anatomischen Institut
der Justus Liebig-Universität Gießen
(Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. A. Oksche)

Leberzellkerngröße in Abhängigkeit
von der Trinkwasser- und Proteinzufuhr
bei der Ratte

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
im Bereich Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Wilhelm Juncker
aus Diez

Gießen 1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Anatomischen Institut
der Justus Liebig-Universität Gießen
(Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. A. Oksche)

Leberzellkerngröße in Abhängigkeit
von der Trinkwasser- und Proteinzufuhr
bei der Ratte

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
im Bereich Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Wilhelm Juncker
aus Diez

Gießen 1973



Dekan: Professor Dr. Hj. Staudinger

Referent: Professor Dr. A. Oksche

Korreferent: Professor Dr. G. Rehner

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
I. EINLEITUNG	1
II. MATERIAL UND METHODIK	2
A) Versuchstierhaltung	2
B) Futter	3
C) Versuchsanordnung	4
D) Histologische Technik	5
E) Histometrische Methodik	6
F) Statistische Auswertung	7
III. ERGEBNISSE	7
A) Histologische und histometrische Befunde	7
- Kernvolumen	
- Kernvolumendichte	
- Häufigkeitsverteilung der Kernvolumina	
- Allgemeine morphologische Befunde	
B) Funktionelle Ergebnisse	9
- Gewichtsveränderungen	
- H ₂ O- Aufnahme	
- Futteraufnahme	
- Urinausscheidung	
- Wassergehalt von Leber und Niere	
C) Sektionsbefunde	11
IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	11
V. ZUSAMMENFASSUNG	19
VI. ANHANG: Tabellen und Abbildungen	21
VII. LITERATURVERZEICHNIS	37

I. EINLEITUNG

Von MAYERSBACH (1956), ÖHLERT u. a. (1960), STÖCKER (1964), ALVAREZ (1966), HOBIG (1968), LOUD (1968) und ZANGLI (1968) sehen die Kerngröße der Leberparenchymzelle als Indikator einer gesteigerten oder herabgesetzten Zelleistung an. Fragen der Kern-Plasmarelation sind vor allem an der Leberzelle untersucht worden (vgl. JACOB, 1942). Nach BENNINGHOFF (1950) zeigen aktivierte Zellen schon kurz (15 - 30 Minuten) nach dem Beginn der Stimulierung eine signifikante (reversible) Kernvolumenzunahme. BENNINGHOFF und Mitarbeiter haben in der Folge aus statistisch gesicherten kurzfristigen Kernvolumenzunahmen bzw. -abnahmen auf eine Aktivierung bzw. Inaktivierung von Zellen (Organen) geschlossen. Daß dieses Verfahren auch an der Leberzelle brauchbar ist, wurde von STÖCKER (1964), v. MAYERSBACH (1956) und ÖHLERT u. Mitarb. (1960) bestätigt.

FETZER hat in einem unvollendet gebliebenen Studienzyklus die Auswirkungen der Trinkwasserversorgung auf die Feinstruktur verschiedener Organe (Leber, endokrines System) verfolgt. Methodische Vorstudien wurden u. a. an der perfundierten Rattenleber durchgeführt (HAAS und FETZER, 1971).

Bei der Metabolisierung von Proteinen bzw. Aminosäuren entstehen erhebliche Mengen osmotisch wirksamer, harnpflichtiger Substanzen. Zufuhr hoher Eiweißmengen belastet somit den Wasserhaushalt erheblich. Steht infolge begrenzten Trinkwasserangebotes nicht genügend Lösungswasser zur Ausscheidung harnpflichtiger Substanzen zur Verfügung, steigt die Konzentration der N-haltigen Proteinmetabolite im Blutserum bzw. in den Geweben stark an. Von einer bestimmten Grenze an bleibt dies nicht ohne Einfluß auf die biochemische und physiologische Leistungsfähigkeit der Zellen bzw. Organe.

Die vorliegende Arbeit soll dazu beitragen, den Einfluß der Trinkwasser-

versorgung bei unterschiedlicher Höhe der Proteinaufnahme auf die Leistungsfähigkeit der Leberparenchymzelle zu ermitteln. Die Änderung der Zellkerngröße soll dabei als Kriterium zur Beurteilung der Zellaktivität dienen.

II. MATERIAL UND METHODIK

A) Versuchstierhaltung

Als Versuchstiere dienten 30 adulte weibliche Wistarratten, die vom Zentralinstitut für Versuchstierzucht in Hannover bezogen wurden. Die Ratten hatten bei Versuchsbeginn ein Gewicht von 160-220 g.

Die Versuchstiere wurden zunächst 24 Tage einzeln in Käfigen aus Maschendraht (19x26 cm), danach 6-8 Tage in Stoffwechselkäfigen aus Plastik gehalten.

1. Die Plastik-Stoffwechselkäfige bestanden aus:

- a) Gehäuse (Ø 19 cm, Höhe 16 cm) mit zahlreichen Luftlöchern sowie einer Öffnung in Bodennähe (Ø 3,5 cm), die der Ratte Zugang zum Futter ermöglichte.

Den Boden des runden Gehäuses bildeten 17 siliconisierte Glasstäbe (Ø 0,3 cm) jeweils im Abstand von 1,0 cm.

In der abnehmbaren gelöcherten Deckplatte befand sich eine größere Öffnung für den Wasserbehälter.

- b) Trichter unterhalb des Gehäuses, dessen Ansatzrohr eine saubere Trennung von Kot und Urin ermöglichte.
- c) Futternapf (Ø 12,0 cm, Höhe 3,5 cm), der auf drehbarem Zapfen so vor dem Käfig angebracht war, daß das Tier mit der Zunge bequem an das Futter herankam. Eine mehrfach durchlöchernte Metallplatte lag so auf dem Futter, daß das Futter nicht verstreut werden konnte.

d) Wasserbehälter für 80 ml Inhalt aus einem 12 cm hohen Glaszylinder mit einer 0,4 cm großen Öffnung und einem Gummistopfen als Verschluss.

e) Holzrahmengestellt.

f) Urinauffangglas.

g) Kotballenauffanggefäß.

2. Eine 5,0 ml Einmalspritze diene bei den Gruppen mit limitierter H_2O -Zufuhr zur exakten H_2O -Auffüllung der Behälter.

3. Gewogen wurde mit einer Mettler-Waage bei einer Genauigkeit von 0,1 g. Bei der Sektion wurden die Organe mit einer Sauter-Monopan-Waage gewogen.

B) Futter

Das halbsynthetische Versuchsfutter hatte folgende Zusammensetzung:

Futterbestandteile	Typ I 15 % Protein	Typ II 30 % Protein	Typ III 60 % Protein	Typ II' 35 % Protein
Casein	15,0 %	30,0 %	60,0 %	35,0 %
Saccharose	75,0 %	60,0 %	30,0 %	55,0 %
Butterfett + fettl. Vit. E, A, D	4,0 %	4,0 %	4,0 %	4,0 %
Mineralstoffe	3,0 %	3,0 %	3,0 %	3,0 %
Methionin	0,3 %	0,3 %	0,3 %	0,3 %
Cholinchlorid	0,2 %	0,2 %	0,2 %	0,2 %
Reisstärke + Vitaminmischung	2,5 %	2,5 %	2,5 %	2,5 %

Die Mineralstoffmischung und die Vitaminmischung waren so dosiert, daß der Bedarf der Ratte an allen essentiellen Mineralstoffen und Vitaminen optimal gedeckt war.

Bei allen Futtertypen handelte es sich um trockenes Feinpulver. Die Erhöhung des Proteingehaltes der Kostformen geschah auf Kosten des Zuckeranteils, ohne daß die übrigen Futterbestandteile verändert wurden.

C) Versuchsanordnung

30 Ratten wurden in 3 Gruppen zu je 2 Untergruppen auf folgende Weise eingeteilt:

Versuchs- gruppe	Zahl der Tiere	Proteingehalt im Futter	Wasserangebot	Versuchsdauer
I	5	15 %	ad libitum	30 - 32 Tage
I lim	5	15 %	5 ml/ 24 h	" " "
II	5	30 %	ad libitum	" " "
II lim	5	30 %	5 ml/ 24 h	" " "
III	5	60 %	ad libitum	" " "
III lim	5	60 %	5 ml/ 24 h	" " "
I ₇	7	15 %	ad libitum	ca. 40 Tage
I ₇ lim	7	15 %	5 ml/ 24 h	" " "
II'	7	35 %	ad libitum	" " "
II' ₇ lim	7	35 %	5 ml/ 24 h	" " "
III ₇	7	60 %	ad libitum	" " "
III ₇ lim	7	60 %	5 ml/ 24 h	" " "
Summa	72			

Täglich wurden um 8.00 Uhr 1) H_2O -Aufnahme, 2) Futteraufnahme, 3) Urinausscheidung und 4) Menge der Faeces, ferner 5) alle 5 Tage das Gewicht der Tiere bestimmt. Die Versuche wurden bei einer durchschnittlichen Raumtemperatur von $21-23^{\circ}C$ und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 45-57 % durchgeführt.

Nach einer Versuchsdauer von durchschnittlich 30 Tagen wurden die Ratten am Vormittag zwischen 9.00 und 11.00 Uhr in Äthernarkose getötet und seziiert. Von jedem Tier wurde ein ausführliches Sektionsprotokoll angelegt, in dem u. a. Aussehen und Gewicht aller Organe festgehalten sind.

Für histometrische Leberstudien wurden außer den oben erwähnten 30 Ratten noch weitere 42 Ratten, die unter nahezu gleichen Versuchsbedingungen gehalten wurden, herangezogen. Diese 42 Tiere (3 Futtergruppen mit je 2 Untergruppen von 7 Ratten) wurden jedoch ca. 40 Tage lang in einem einfachen Drahtkäfig gehalten und erhielten in der zweiten Futtergruppe statt 30 % Casein 35 % Casein angeboten. Alle übrigen Versuchsbedingungen blieben hingegen unverändert. (Die Gruppen der zuletzt genannten Versuchsreihe sind im Text mit dem Kennzeichen 7 versehen worden, s. unteren Teil der Tab. auf S. 4).

Die Tiergruppe mit 15 % Protein in der Nahrung und einer H_2O -Zufuhr ad libitum diente als Kontrollgruppe.

D) Histologische Technik

Die Rattenleber wurde nach dem Wiegen lebensfrisch in der Bouinschen Flüssigkeit fixiert. Anschließend wurde unter Einhaltung konstanter Bedingungen über Alkohol, Methylbenzoat und Benzol in Paraffin eingebettet. Mit dem Jung-Mikrotom wurden 7μ dicke Schnitte hergestellt und mit Hämalaurin-Orange G - Phosphormolybdänsäure - Anilinsblau (HOPA) gefärbt. Außerdem gelangte auch eine Galloxyanin-Chromalaun-Färbung zur Anwendung.

Der H_2O -Gehalt der Leber und (aus Vergleichsgründen) der rechten Niere wurde nach 3-tägiger Trocknung (bei $90^{\circ}C$ im Trockenschrank) eines größeren Gewebestückchens aus der Differenz zum ursprünglichen Frischgewicht bestimmt.

E) Histometrische Methodik

1. Bestimmung des Kernvolumens der Leberparenchymzellen:

Es wurden in mindestens 3 - 5 Periportalfeldern insgesamt 100 Zellkerne pro Tier gemessen. Sie wurden zuerst mit Hilfe eines Zeichenprismas bei 2000-facher Vergrößerung auf Papier gezeichnet. Anschließend wurde der größte und der kleinste Durchmesser der zumeist rund - ovalen Zellkerne mit einem durchsichtigen Lineal (Genauigkeit bis 0,5 mm) gemessen. In doppelkernigen Zellen wurden beide Kerne ausgewertet. Das Volumen wurde nach der Formel $V = \frac{\sqrt{\pi}}{6} \times 2a \times (2b)^2$ für Rotationsellipsoide (20) berechnet. Hierfür wurde ein Nomogramm verwendet, das die Ablesung mit einer Klassenbreite von $5 \mu m^3$ erlaubte.

2. Bestimmung des Volumenanteils von Leberzellkernen, die auf ein bestimmtes Gewebsvolumen entfallen (= Kernvolumendichte) nach dem Punktzählverfahren (Übersicht siehe WEIBEL und ELIAS, 1967; 19) als indirekter Parameter für die Zellgröße. Es wurde das Stichprobenmikroskop (Fa. Wild, Heerbrugg) bei 100-facher Vergrößerung und Ölimmersion benutzt. (Meßflächengröße: $3600 \mu m^2$; Gitterkonstante des Rastergitters $5 \mu m$)

In jeweils 30 Messungen pro Tier wurde die Kernvolumendichte in der Periportalregion gemessen.

F) Statistische Auswertung

Aus den Einzelergebnissen der Volumenberechnung wurde das sogenannte Gesamtvolumen (= Volumen von 100 Zellkernen) zunächst für jedes Einzeltier, dann für die Versuchsgruppe bestimmt. Teilt man das Gesamtvolumen durch 100, so erhält man das arithmetische Mittel, das das Volumen eines durchschnittlichen, aber fiktiven Zellkernes widerspiegelt. In den Tabellen sind stets arithmetisches Mittel, Standardabweichung und Anzahl der Messungen für jede Versuchsgruppe angegeben.

Die statistische Auswertung der Kernmessungen erfolgte nach den Angaben von G. HILLER (20), L. SACHS (46) und D. STAMM (49). Die Signifikanzberechnung erfolgte mit dem T-Test der STUDENT-Verteilung.

Als Rechenhilfsmittel diente eine vorprogrammierte Diehl-Sigmatron Rechenmaschine. Durch entsprechende eigene und andere Doppelmessungen ist nachgewiesen, daß das angewandte Meßverfahren von ausreichender Genauigkeit ist und reproduzierbare Zahlenwerte liefert (17, 20, 24).

III. ERGEBNISSE

A) Histologische und histometrische Befunde

Die Zellkervolumina in Abhängigkeit vom Eiweißgehalt des Futters und der H_2O -Zufuhr sind in der Tab. 1 und Abb. 1 dargestellt.

Es geht daraus hervor, daß eine Zunahme im Proteinanteil der Nahrung mit einer Kernschwellung der Leberparenchymzelle, ein gleichzeitiger H_2O -Mangel mit einer Kernschrumpfung einhergehen.

Die Anzahl der Treffer, die auf die Leberparenchymzellkerne in der Flächeneinheit (= Kernvolumendichte) der Periportalregion fallen, ist in Tab. 2 und Abb. 2 dargestellt.

Man beachte das spiegelbildähnliche Verhalten zur Kernvolumenveränderung unter den beschriebenen Ernährungsbedingungen. Bei einer Kernvolumenzunahme nimmt die Kernvolumendichte ab und umgekehrt.

Eine Einteilung in Kerngrößenklassen, wie sie zuerst von JACOBJ (1942) und später u. a. von TONGIANI und PUCCINELLI (1970) vorgenommen wurde, ist in den Abb. 3 und 4 wiedergegeben.

Außer dem bekannten Verteilungsverhältnis von nahezu 1 : 2 : 4 fällt in den einem H_2O -Mangel ausgesetzten Tiergruppen ein deutliches Überwiegen der kleinen Zellkerne auf.

Während bei der mit H_2O ad lib. gehaltenen Tieren auch Kerngrößenzwischenklassen und höhere Größenklassen ausgebildet sind, treten diese bei den einem H_2O -Mangel ausgesetzten Tieren nicht auf.

Eine wichtige anatomische Grundlage der eigenen Studien sind die Verhältnisse in der Periportalregion des Leberläppchens, vornehmlich in der von RAPPAPORT (1963) definierten ersten Gefäßversorgungszone. Diese Zone I enthält Leberzellen, die in bezug auf O_2 und Nahrungsstoffen optimal versorgt wird.

Es ist bekannt, daß in der Leber zwei- oder sogar mehrkernige Zellen vorkommen können (10, 40, 41, 53). Im eigenen Material kamen auf 6.700 ausgemessene Leberzellen der Periportalregion 547 doppelkernige Zellen (etwa 8 %). Unter den geschilderten Versuchsbedingungen konnte keine wesentliche Änderung in dem prozentualen Anteil an doppelkernigen Zellen festgestellt werden.

Bei der mikroskopischen Auswertung von Leberpräparaten der mit H_2O ad lib. versorgten Ratten fallen folgende Strukturveränderungen auf:

- 1) Von 15 % über 30 % zu 60 % Protein in der Nahrung nehmen die hellen, nicht angefärbten Cytoplasmabezirke, die bevorzugt in den periportal-ten Parenchymzellen auftreten, ab; gleichzeitig verstärkt sich die schollige Strukturzeichnung aller Parenchymzellen.

- 2) Die deutlichsten Balkenverbände der Leberzellen sind bei einer Diät mit 60 % Nahrungsprotein zu beobachten.

Die mikroskopische Struktur der Leberpräparate bei limitierter H_2O -Zufuhr ernährten Ratten zeigt die folgenden Eigentümlichkeiten:

- 1) Aufgehellte Cytoplasmabezirke sind nur in der Gruppe mit 15 % Nahrungsprotein zu erkennen. Sonst fällt eine von 15 % über 30 % zu 60 % Protein in der Nahrung zunehmende homogene Beschaffenheit des Grundplasmas auf.
- 2) Die infolge des H_2O -Mangels geschrumpften Parenchymzellen liegen dichter gepackt.

Die Mikraufnahmen der Abb. 14 a - f versuchen, die geschilderten Unterschiede zu dokumentieren.

Die Gallocyanin-Chromalaun-Färbung (vgl. Pearse, Histochemistry, Theoretical and Applied) wird als spezifisch für nucleinsäurehaltige Eiweißstoffe angesehen. Die Färbung der Leberpräparate mit Gallocyanin zeigt, daß die oben beschriebenen Cytoplasma-Granula sich blau tingieren. In den Gallocyanin-Chromalaun-Präparaten nimmt das basophile schollige Material in den Versuchsgruppen mit 15 % über 30 % zu 60 % Nahrungsprotein und H_2O ad lib. zu (vgl. Abb. 14 a - f).

In allen mikroskopisch ausgewerteten 67 Leberpräparaten war kein Anhalt für Zellnekrosen oder vermehrte Zellneubildung zu finden.

B) Funktionelle Ergebnisse

Die Versuchstiere vertrugen eine Erhöhung des Proteinanteils der Nahrung bei freier Zufuhr von Trinkwasser relativ gut. Der Anstieg der Proteinzufuhr mit gleichzeitiger Begrenzung des Trinkwassers führte hingegen zu einer schweren Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes. Während die Versuchsbedingungen in den Gruppen I lim. und II lim. relativ gut überstanden wurden,

hatten sie in der Gruppe III lim. den Tod von 2 Tieren nach 28 bzw. 30 Versuchstagen zur Folge. Diese beiden Ratten wurden bei der folgenden Auswertung nicht berücksichtigt.

In der Gruppe I und II gingen je 1 Tier an einem Infekt der oberen Luftwege und des Darmes nach 26 Versuchstagen ein und konnten ebenfalls nicht berücksichtigt werden. Die versuchsbedingten Gewichtsveränderungen sind der Abb. 5 zu entnehmen. Das Verhalten von H_2O -Aufnahme, Futteraufnahme, Proteinaufnahme und Urinausscheidung ist in der Tab. 3 und in den Abb. 6 - 9 dargestellt.

Das Verhalten der Organgewichte (bezogen auf 100 g Körpergewicht) ist der Tab. 4 und der Abb. 10-12 zu entnehmen. Bemerkenswert ist der stärkere Anstieg des Lebergewichts pro 100 g Körpergewicht bei Gruppe II als bei Gruppe III im Vergleich zu Gruppe I, während bei H_2O -Limitierung das Lebergewicht pro 100 g Körpergewicht von Gruppe I lim. zu II lim. gering, von Gruppe II lim. zu III lim. aber beträchtlich abnimmt (s. Tab. 4 und Abb. 10).

Der H_2O -Gehalt der rechten Niere zeigt in allen Versuchsgruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede (siehe hierzu Tab. 5 und Abb. 13).

Der H_2O -Gehalt der Leber konnte nur bei einem Teil der untersuchten Ratten bestimmt werden, da bei den übrigen Versuchstieren die Leber perfundiert wurde (vgl. HAAS und FETZER, 1971). Der H_2O -Gehalt der Leber (mit den oben genannten Einschränkungen) ist in der Tab. 5 wiedergegeben. Der H_2O -Gehalt der Leber in den einzelnen Versuchsgruppen mit reichlicher Wasseraufnahme bzw. bei Wassermangel ist annähernd gleich.

Zu gleichen Ergebnissen kamen COLLIER (1966), DRAKE u. a. (1930), IYPE u. a. (1965), KOSTERLITZ (1947) und LEPKOVSKY u. a. (1957), die dafür sprechen, daß der H_2O -Gehalt der Rattenleber auch unter Durstbedingungen konstant bleibt.

C) Allgemeine Sektionsbefunde

Bei der Sektion der Ratten fällt auf, daß mit zunehmendem Proteingehalt der Nahrung und H_2O ad lib. 1) das Haut- und Unterhautgewebe flüssigkeitsärmer wird und 2) das subcutane, intra- und retroperitoneale Fettgewebe reduziert ist.

Noch stärker fällt bei den unter H_2O -Mangel leidenden Ratten mit steigendem Proteingehalt der Nahrung auf, daß 1) ihr Allgemeinzustand reduziert ist, 2) das Haut- und Unterhautgewebe eine lederartige Beschaffenheit aufweist, 3) das subcutane, intra- und retroperitoneale Fettgewebe vollständig abgebaut ist, 4) eine Thymusinvolution vorliegt und 5) der Magen-Darmtrakt atrophisch erscheint.

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

In der vorliegenden Studie wurden a) cytologische und b) funktionelle Befunde erhoben.

Eine Aufgabe der Diskussion ist, die cytologischen Veränderungen zu den funktionellen Ergebnissen in Beziehung zu setzen.

In den eigenen Versuchen wurde durch a) Erhöhung des Proteinanteils in der Nahrung und b) Begrenzung der H_2O -Aufnahme auf 5 ml pro 24 Stunden sowohl der Eiweißstoffwechsel als auch der Wasserhaushalt der Ratte erheblich belastet. In der Folge traten Veränderungen an den Leberzellen auf.

1. Veränderungen des Zellkernvolumens

Erhöhung des Proteingehaltes der Nahrung führt zu einer Volumenzunahme der Leberzellkerne nur dann, wenn gleichzeitig eine H_2O -Aufnahme gewährleistet ist (Tab. 1 und Abb. 1). Ist die H_2O -Zufuhr dagegen herabgesetzt,

so kommt es zu einer Volumenabnahme der Leberzellkerne, die mit steigendem Proteingehalt der Nahrung immer stärker wird (Tab. 1 und Abb. 1).

Diese Volumenänderungen können hier nicht kausal gedeutet werden, da qualitative und quantitative histochemische Untersuchungen nicht durchgeführt wurden. Sowohl am Zellkern als auch am Cytoplasma wären mikrospektrographische Studien vorzunehmen, die dem Nachweis der Nucleinsäuren dienen. Diese Ergebnisse könnten mit interferenzmikroskopischen Befunden (Zellmassenbestimmungen) weiter untermauert werden (vgl. TONGIANI und PUCCINELLI, 1970). Aus der Bestimmung des Kernvolumens allein kann man nicht schließen, ob Kernsaftvermehrung, Steigerung der Eiweißsyntheseaktivität, "Leistungswachstum" oder ein regulativer Vorgang auf der Basis der Kern-Plasma-Reaktion vorliegt. Die Kernvolumenzunahme mag einen komplexen Charakter haben. Funktionsabhängige Kernvolumenzunahme ist in der Leber von HOBICK u. a. (1968), JACOB (1942), JUCKER (1936), KOSTERLITZ (1947), LAGERSTÄDT (1949), von MAYERSBACH (1956), OEHLERT (1960) und STÖCKER (1964) beobachtet worden.

Bemerkenswert ist die Kernvolumenabnahme bei erhöhter Proteinzufuhr und gleichzeitigem H_2O -Mangel (Tab. 1 und Abb. 1). Da im Material dieser Arbeit der relative H_2O -Gehalt in Niere und Leber unter Durstbedingungen konstant blieb, muß auch für die beobachtete Kernschrumpfung eine komplexere Erklärung gesucht werden. Mit der Kernschrumpfung geht auch eine Verkleinerung der ganzen Leberzelle einher, die von einem Verlust an paraplasmatischen Stoffen begleitet ist. Daraus resultiert letzten Endes ein vermindertes Organgewicht.

Diese Beobachtungen enthalten Ansätze für histochemische Untersuchungen, die im Zusammenhang mit der Frage der paraplasmatischen Einschlüsse in erster Linie Protein und Glykogen berücksichtigen müssen.

Bei dem Vergleich der mit 60 % Protein unter H_2O -Mangel ernährten Ratten mit Tieren, die mit 15 % Protein bei H_2O -Mangel ernährt wurden, fällt bei den ersteren eine rapide Abnahme des Kernvolumens auf. Da die Wasserzufuhr konstant war, können diese Veränderungen auf die erhöhte Proteinkonzentration der Nahrung zurückgeführt werden.

In der Leber als dem zentralen Stoffwechselorgan, in dem die zugeführten Nahrungsproteine abgebaut und z. T. zur Energiegewinnung verbraucht, z. T. zur Neusynthese körpereigener Eiweiße verwendet werden, hat das vermehrte Angebot von Nahrungsprotein einen erhöhten H_2O -Bedarf zur Folge. Bei der Metabolisierung von Proteinen entstehen erhebliche Mengen osmotisch wirksamer, harnpflichtiger Substanzen. Steht infolge begrenzten Trinkwasserangebotes nicht genügend Lösungswasser zur Ausscheidung harnpflichtiger Substanzen zur Verfügung, steigt die Konzentration der N-haltigen Proteinmetabolite im Blutserum bzw. in den Geweben stark an. Von einer bestimmten Grenze an bleibt dies nicht ohne Einfluß auf die funktionelle Leistungsfähigkeit der Zellen bzw. Organe (vgl. Einleitung).

2. Anzahl der Treffer, die auf Zellkerne in der Flächeneinheit (Kernvolumendichte) fallen, als indirekter Parameter für die Zellgröße

Wenn sich die Kernvolumendichte verändert, gibt es grundsätzlich 2 Erklärungen: a) Vermehrung oder Verminderung der Zellzahl, b) Vermehrung oder Abnahme der zwischen den Zellkernen liegenden Substanz. Da für eine Vermehrung der Zellzahl, die mit Mitosen oder Amitosen einhergeht, oder für deren Verminderung, die durch Zellnekrosen gekennzeichnet ist, kein Anhalt vorliegt, beruhen die Änderungen der Kernvolumendichte auf einer Zu- oder Abnahme des zwischen den Zellkernen liegenden Materials. Berücksichtigt man, daß 1) das Cytoplasma den größten Anteil an dem zwischen den Kernen liegenden Raum hat

und 2) die Messungen im Periportalfeld vorgenommen wurden, wo die Leberzellen dicht gepackt liegen, so kann die Kernvolumendichte als indirekter Parameter für die Zellgröße verwendet werden. Auch DOLJANSKI (1960), HOBICK u. a. (1968) und KOSTERLITZ (1947) haben festgestellt, daß bei adulten Ratten unter verschiedenen Ernährungsbedingungen die Anzahl der Leberzellen konstant bleibt.

Aus der Tab. 2 und Abb. 2 geht hervor, daß a) bei 30 % Nahrungsprotein + H₂O-Zufuhr ad lib. die Trefferanzahl der Zellkerne pro Fläche abnimmt und somit Ausdruck einer Cytoplasmavermehrung (Zellvergrößerung) ist und b) bei 60 % Nahrungsprotein + H₂O-Zufuhr ad lib. die Kernvolumendichte gegenüber der Kontrollgruppe unverändert bleibt und daher für eine unveränderte Zellgröße spricht.

Berücksichtigt man hierbei das Kernvolumen, so kann gesagt werden:

- a) 30 % Nahrungsprotein bei H₂O-Zufuhr ad lib. führen zu Kernvergrößerung und Cytoplasmavermehrung (Zellvergrößerung),
- b) 60 % Nahrungsprotein bei H₂O-Zufuhr ad lib. führen zu einer weiteren Kernvolumenzunahme ohne Cytoplasmavermehrung.

Beide Schlußfolgerungen werden durch die Zunahme des Lebergewichts bestätigt, wobei das Gewicht bei 60 % Nahrungsprotein + H₂O-Zufuhr ad lib. deutlich geringer ist als bei 30 % + H₂O-Zufuhr ad lib. (Tab. 4 und Abb. 10).

Wie aus den Tab. 1, 2 und Abb. 1, 2 ersichtlich, geht eine Kernvolumenabnahme, die durch H₂O-Mangel allein bewirkt wird, oder noch ausgeprägter bei gleichzeitiger Erhöhung des Proteingehalts der Nahrung eintritt, mit einer stetigen Zunahme der Kernvolumendichte einher. Die Zellverkleinerung wird durch das gleichzeitige Absinken des Lebergewichts bestätigt. (Siehe hierzu Abb. 14 a - f sowie Tab. 4 und Abb. 10).

3. Häufigkeitsverteilung der Kernvolumina

Die vorliegenden Kernmessungen beziehen sich alle auf die Periportalregion des Leberläppchens, insbesondere auf die von RAPPAPORT (1963) definierte erste Gefäßversorgungszone. Abb. 3 und 4 zeigen, daß auch innerhalb einer qualitativ gleichmäßig versorgten Läppchenzone der Leber Kernvolumenschwankungen im Verhältnis von nahezu 1 : 2 : 4 vorkommen.

Während die verschiedenen Proteinkonzentrationen (15 %, 30 %, 60 %) in der Nahrung keinen sicheren Einfluß auf die Kerngrößenvariation haben, kommt es unter H_2O -Mangel in den Proteinklassen 30 % und 60 % zu einer Linksverschiebung der Regelgröße von $175 \mu m^3$ zu der kleinen Kerngrößenklasse mit $75-95 \mu m^3$. Zu ähnlichen Linksverschiebungen kommt es in der Rattenleber wie HOBICK (1968) und KOSTERLITZ (1947) nachgewiesen haben auch unter Hungerbedingungen. TONGIANI und PUCCINELLI (1970) konnten interferenzmikroskopisch zeigen, daß den Kernvolumenklassen der Leber Zellklassen (nach Zellmassenbestimmung geordnet) in einem Verhältnis von 1 : 2,8 bis 1 : 14,2 gegenüberstehen.

4. Cytoplasmatische Veränderungen

Ein scholliges Material im Leberzellplasma, das bei steigendem Proteingehalt der Nahrung zunimmt, konnte mit der Gallocyanin-Chromalaun-Färbung dargestellt werden. Diese vermehrt im Cytoplasma auftretenden basophilen (RNS-reichen?) Schollen müssen in Zusammenhang mit dem bei erhöhter Proteinzufuhr zu erwartenden Proteinmetabolismus gesehen werden.

LAGERSTAEDT (1949) und von MAYERSBACH (1956) gelang mit verschiedenen histochemischen Techniken der Nachweis, daß die unter Eiweißfütterung (oral oder parenteral) vermehrt im Cytoplasma auftretenden scholligen Einschlüsse als RNS-Komplexe anzusehen sind; sie gehören

zum Ergastoplasma der Leberzelle. Die geschilderten basophilen Schollen sind in der Rattenleber sowohl bei ausreichender H_2O -Aufnahme als auch bei H_2O -Mangel zu beobachten.

Beachtung verdienen noch die Veränderungen an den aufgehellten Cytoplasmabezirken, die von paraplasmatischen Einschlüssen, vor allem Glykogen, eingenommen werden (vgl. CLARK u. a., 1960; CORRIN 1968; De MAN u. a., 1965; IYPE u. a. 1965; ROUILLER, 1963; weitere Literatur bei WALLRAFF, 1969).

5. Gewichtsveränderungen an Organen und Gesamtorganismus, H_2O -Gehalt, Austrocknung der Haut und Abnahme des Fettgewebes

Die histologisch in der Rattenleber nachgewiesenen Zellveränderungen wie Kernschwellung, Kernschrumpfung, Zellvergrößerung - und -verkleinerung stehen mit den gleichsinnigen Veränderungen des Lebergewichtes (Tab. 4 und Abb. 10) im Einklang. Ein Teil der obengenannten Veränderungen ist eine Folge der verringerten Futteraufnahme der Tiere in den Gruppen mit limitierter H_2O -Aufnahme. Die Einschränkung der Futteraufnahme ist wiederum eine Folge des Durstens bei hoher Protein-zufuhr.

Im eigenen Versuchsmaterial blieb in allen Tiergruppen der H_2O -Gehalt der Leber nahezu konstant, so daß die nachgewiesenen Gewichtsveränderungen dieses Organs nur durch Vermehrung oder Abnahme von Zellsubstanz erklärt werden können.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß die Nierengewichte aller durstenden Ratten größer sind als die der Tiere, denen H_2O ad lib. zur Verfügung stand, (Tab. 4 und Abb. 11). Gleichzeitig blieb der H_2O -Gehalt der Nieren in allen Versuchsgruppen konstant, (Tab. 5 und Abb. 13). Es fragt sich, ob bei den proteinreich ernährten Ratten eine Leistungshypertrophie der Niere eintritt.

Ferner muß festgehalten werden, daß die Nebennierengewichte aller H_2O -Mangel leidenden Ratten größer sind als die der Tiere, denen H_2O ad lib. zur Verfügung stand (Tab. 4 und Abb. 12). Welche Strukturen der Nebenniere auf die erhöhte Proteinzufuhr und den gleichzeitigen Wassermangel reagieren, bleibt offen. Sicher hat der Stress der Versuchsbedingungen an der Gewichtszunahme der Nebenniere wesentlichen Anteil.

Die allgemeine Gewichtszunahme der Ratten bei freier H_2O -Aufnahme und Proteinüberfütterung ist an und für sich nicht überraschend. Zu beachten ist jedoch, daß diese Gewichtszunahme mit steigendem Proteingehalt in der Nahrung (das "Optimum" überschreitend) geringer wird. Bei Zunahme des Proteingehalts der Nahrung tritt ein Abbau des Fettgewebes ein. Dieser Fettschwund dürfte eine wesentliche Ursache für die insgesamt geringere Gewichtszunahme sein (Abb. 5).

Bei H_2O -Mangel fällt das Körpergewicht der Ratten mit zunehmendem Proteingehalt der Nahrung schnell ab (Abb. 5). Diese Gewichtsabnahme ist von einem weitgehenden Schwund des gesamten Fettgewebes und einer Organatrophie (Leber, Magen-Darmtrakt, Haut und Thymus) begleitet.

COLLIER (1966) und LEPKOVSKY (1957) haben übereinstimmend gezeigt, daß Ratten unter Durstbedingungen in der Lage sind, ihren totalen H_2O -Gehalt in Prozent des Lebendgewichts konstant zu halten.

Diese Autoren haben einen Gewichtsverlust, Abbau der Fettdepots und Verschiebung der H_2O -Speicher von der Haut und anderen Organen zu den wichtigsten Stoffwechselorganen beschrieben.

6. Veränderungen in der Futter-, H_2O -Aufnahme sowie in der Urinausscheidung

H_2O -Mangel und Proteinüberfütterung haben einen jeweils voneinander abhängigen starken Einfluß auf den H_2O -Haushalt des Organismus, die Futteraufnahme, die Urinausscheidung und das Körper- bzw. Organgewicht. Von allen hier gemessenen Größen scheint aber nur eine von der Ratte konstant gehalten zu werden, nämlich der H_2O -Gehalt in Prozent des Körper- bzw. Organgewichts (Leber, Niere).

Während die Verfütterung hoher Proteinmengen (30 % u. 60 % in der Nahrung bei uneingeschränktem H_2O -Angebot zu einer erhöhten H_2O -Aufnahme (Abb. 6) führt, kommt es unter H_2O -Mangel bei Erhöhung der Proteinkonzentration in der Nahrung zu einer Abnahme der Futteraufnahme, Zunahme der Urinausscheidung und zu der bereits erwähnten Abnahme des Körpergewichts (Abb. 5 - 8). Die verminderte Futteraufnahme bei H_2O -Mangel hat ihre Ursache in Appetitlosigkeit, da eine Zunahme des Proteingehalts der Nahrung einen erhöhten H_2O -Bedarf (Durst) zur Folge hat. Die tatsächlich aufgenommene Proteinmenge (Abb. 9) ist trotz verminderter Futteraufnahme in den Gruppen II und III größer als in der Gruppe I. Das gleiche gilt für die Gruppen I lim., II lim und III lim.

Die Zunahme der Urinausscheidung im H_2O -Mangel bei Proteinüberfütterung findet z. T. ihre Erklärung in dem vermehrten Anfall von N-haltigen Abbauprodukten, z. B. Harnstoff.

Da aber die Nieren in ihrer Konzentrierungsmöglichkeit begrenzt sind, steigt unter der Voraussetzung, daß jede ausgeschiedene Substanz mit einer entsprechenden Menge Lösungswasser eliminiert wird, bei vermehrtem Anfall auszuscheidender Substanzen auch die Urinmenge an. Zahlreiche Fütterungsversuche der letzten 30 Jahre bei Ratten unter H_2O -Mangel zeigen, daß hohe Proteinkonzentrationen durch Anstieg der Harnstoffbildung zum raschen Tod der Tiere führten, während hohe Fett- oder Kohlen-

hydratkonzentrationen bei einem H_2O -Mangel ein längeres Überleben der Tiere ermöglichen.

Abschließend kann man sagen: Die Steigerung des Proteingehaltes der Nahrung führt bei der Ratte zu einem erhöhten H_2O -Bedarf. Dieser findet seinen Ausdruck in vermehrter H_2O -Aufnahme bzw. unter H_2O -Mangel in der Ausschöpfung körpereigener H_2O -Depots. In der Leber ist eine Kernschrumpfung und Zellverkleinerung, im übrigen Organismus eine Involution des Fettgewebes, Thymusgewebes und Magen-Darmtrakts sowie eine Austrocknung der Haut zu beobachten.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei Ratten wurde die Leberzellkerngröße in Abhängigkeit von Trinkwasseraufnahme und Proteinzufuhr untersucht.

Im einzelnen wurden die folgenden Befunde erhoben:

A) In den Versuchsgruppen mit uneingeschränkter H_2O -Zufuhr:

1. Eine Zunahme des Kernvolumens, die die Erhöhung des Proteinanteils der Nahrung von 15 % über 30 % zu 60 % begleitet.
2. Eine Abnahme der Kernvolumendichte bei Erhöhung des Proteinanteils von 15 % zu 30 %. Die Kernzahl pro Flächeneinheit bei 60 % Proteingehalt unterscheidet sich hingegen nicht von Ausgangswerten der Kontrollgruppe (15 % Protein in der Nahrung).

B) In den Versuchsgruppen mit limitierter H_2O -Zufuhr:

1. Eine Abnahme des Kernvolumens bei Erhöhung des Proteinanteils der Nahrung von 15 % über 30 % zu 60 %.
2. Eine Zunahme der Kernvolumendichte bei Erhöhung des Proteinanteils der Nahrung von 15 % über 30 % zu 60 %.

- C) Der Anstieg der Kernvolumendichte bedeutet eine Zellschrumpfung und umgekehrt.
- D) In den Leberzellen traten bei erhöhter Proteinzufuhr vermehrt schollige Einschlüsse auf, die als basophile RNS-haltige Komplexe anzusehen sind.
- E) Das Lebergewicht stieg bei nahezu konstantem H_2O -Gehalt mit der Erhöhung des Proteingehalts der Nahrung. H_2O -Mangel hatte hingegen eine Abnahme des Lebergewichts zur Folge.
- F) 1. Erhöhte Proteinzufuhr hatte eine Involution des Fettgewebes und Austrocknung der Haut zur Folge.
2. Bei H_2O -Mangel kam es bei Erhöhung des Proteingehalts der Nahrung von 15 % über 30 % zu 60 % zu einem zunehmenden Schwund des Fettgewebes, zur Austrocknung der Haut, Involution des Thymus und Atrophie des Magen-Darmtrakts; insgesamt trat ein Verlust des Körpergewichts ein.
- G) Die H_2O -Aufnahme stieg mit der Zunahme des Proteingehalts in der Nahrung.
- H) Bei limitierter H_2O -Zufuhr trat parallel zum Anstieg des Proteingehalts in der Nahrung ein Rückgang der Futteraufnahme und eine Erhöhung der Urinausscheidung ein.
- I) Die Gewichte der Nieren und Nebennieren nahmen mit steigendem Proteingehalt der Nahrung zu, wobei sie durch gleichzeitigen H_2O -Mangel weiter erhöht wurden. Der H_2O -Gehalt der Nieren blieb aber in allen Versuchsgruppen konstant.

VI. ANHANG :

Tabellen und Abbildungen

Übersicht

Versuchs- gruppe	Nahrungsaufnahme			Urinaus- scheidung	Organgewichte			H ₂ O- Gehalt	Gewichts- verände- rung in 25 Tagen	Zellverhalten		
	Nahrungs- protein	H ₂ O	Futter		Leber	Niere	N-Niere			Kern- Kern- Zell- volu- volu- grö- men- men- dichte	baso- phile Schollen Zell- areale	Pett- gewebe
Nr.	Trink- H ₂ O-Ange- bot	g	$\frac{\text{g}}{\text{Protein}}$	ml/24 h	g 100 g	g 100 g	(reli) pro	Niere (re.) %	g	% μm^3	opt. leere areale	Haut
I	$\frac{15\%}{\text{ad lib.}}$	18,30	$\frac{12,42}{1,86}$	7,83	3,47	0,59	22,0	75	+ 60	31 15,700 norm.	norm.	norm.
I	$\frac{15\%}{5\text{ml}/24\text{h}}$	5,0	$\frac{9,35}{1,40}$	2,10	3,39	0,69	25,8	75	+ 20	42 13,553 kleiner	+	redu- ziert
II	$\frac{30\%}{\text{ad lib.}}$	19,10	$\frac{11,17}{3,35}$	8,13	4,06	0,67	26,0	71	+ 80	28 15,836 größer	++	stärker redu- ziert
II	$\frac{30\%}{5\text{ml}/24\text{h}}$	5,0	$\frac{8,71}{2,61}$	2,24	3,33	0,88	30,5	73	- 15	53 11,361 deutl. kleiner	++	erhebl. redu- trocken ziert
III	$\frac{60\%}{\text{ad lib.}}$	30,06	$\frac{11,24}{6,74}$	20,28	3,74	0,81	27,6	73	+ 40	31 16,353 norm.	+++	ganz erhebl. redu- trocken ziert
III	$\frac{60\%}{5\text{ml}/24\text{h}}$	5,0	$\frac{4,88}{2,93}$	3,60	2,81	0,99	38,0	75	- 50	67 10,977 erhebl. kleiner	+++	ganz redu- trocken ziert

Tabelle 1: Das Verhalten der Kernvolumina in $10^2 \mu m^3$ bei unterschiedlicher Proteinkonzentration der Wasserangabe bei verschiedenen hoher Wasseraufnahme. (n = Anzahl der Messungen, $\bar{x}$ arithmetischer Mittel, s = Streuung, t = Wert der STUDENT-Verteilung)

Proteingehalt Wasserangebot Versuchsgruppe	15 %		15 %		30 % (35%)		30 % (35%)		60 %	
	ad libitum		5 ml/24 h		ad libitum		5 ml/24 h		ad libitum	
Versuchsgruppe	I		I lim.		II		II lim.		III	
	n		500		400		500		400	
$\bar{x}$	157,00		135,53		158,36		113,61		163,53	
s	24,43		27,52		16,68		21,05		12,42	
$\hat{t}_{0,01}$	12,39 > $t_{0,01}$				35,49 > $t_{0,01}$				34,42 > $t_{0,01}$	
$\hat{t}_{0,01}^*$			-		0,91 < $t_{0,01}^{**}$		14,15 > $t_{0,01}$		4,77 > $t_{0,01}$	
									12,34 > $t_{0,01}$	

Versuchsgruppe	I ₇		I ₇ lim.		II ₇		II ₇ lim.		III ₇	
	n		700		700		700		700	
$\bar{x}$	163,27		156,17		179,87		115,85		188,37	
s	23,19		22,65		33,62		12,77		20,12	
$\hat{t}_{0,01}$	5,79 > $t_{0,01}$				47,09 > $t_{0,01}$				49,11 > $t_{0,01}$	
$\hat{t}_{0,01}^*$	-		-		10,75 > $t_{0,01}$		41,02 > $t_{0,01}$		21,64 > $t_{0,01}$	
									28,53 > $t_{0,01}$	

* Der zweite angegebene $\hat{t}_{0,01}$ -Wert bezieht sich bei den Gruppen II und III auf den Vergleich zur Kontrollgruppe I bzw. bei den Gruppen II₇ lim. und III₇ lim. auf den Vergleich zur Gruppe I lim.

** Anhand der vorliegenden Stichprobe läßt sich mit der verwendeten Signifikanzwahrscheinlichkeit kein Unterschied feststellen. Ein statistisch gesicherter Unterschied liegt aber in der entsprechenden Gruppe der Versuchsreihe 7 vor.

Tabelle 2: Anzahl der Treffer, die auf die Kerne in der Flächeneinheit fallen, unter den auf Seite 3 und 5 geschilderten Versuchsbedingungen = Kernvolumendichte (in Klammern angegeben), (n = Anzahl der Messungen, $\bar{x}$ = arithmetischer Mittelwert, s = Streuung, t = Wert der STUDENT-Verteilung)

Proteingehalt Wasserangebot Versuchsgruppe	15 % ad libitum I	15 % 5 ml/24 h I lim.	30 % (35%) ad libitum II	30 % (35%) 5 ml/24 h II lim.	60 % ad libitum III	60 % 5 ml/24 h III lim.
n	120	150	120	150	150	90
$\bar{x}$	11 (31 %)	15 (42 %)	10 (28 %)	19 (53 %)	11 (31 %)	24 (67 %)
s	2	3	2	3	2	4
$\hat{t}_{0,01}$	4,09 > $t_{0,01}$		9,68 > $t_{0,01}$		12,63 > $t_{0,01}$	
$\hat{t}_{0,01}^*$	-	-	3,87 > $t_{0,01}$	11,43 > $t_{0,01}$	0 < $t_{0,01}$	18,46 > $t_{0,01}$

Versuchsgruppe	I ₇	I ₇ lim.	II' ₇	II' ₇ lim.	III' ₇	III' ₇ lim.
n	210	210	210	210	210	150
$\bar{x}$	11 (31 %)	14 (39 %)	10 (28 %)	22 (61 %)	11 (31 %)	26 (72 %)
s	2	2	2	3	2	4
$\hat{t}_{0,01}$	15,37 > $t_{0,01}$		48,23 > $t_{0,01}$		42,31 > $t_{0,01}$	
$\hat{t}_{0,01}^*$	-	-	5,0 > $t_{0,01}$	33,33 > $t_{0,01}$	0 < $t_{0,01}$	9,09 > $t_{0,01}$

* Der zweite angegebene $\hat{t}_{0,01}$ -Wert bezieht sich bei den Gruppen II und III auf den Vergleich zur Kontrollgruppe I bzw. bei den Gruppen II lim. und III lim. auf den Vergleich zur Gruppe I lim.

Abbildung 3: H₂O-Aufnahme, Futteraufnahme, Proteinaufnahme und Urinausscheidung unter den auf Seite 4 geschilderten Versuchsbedingungen. (n = Anzahl der Messungen, $\bar{x}$ = arithmetischer Mittelwert und s = Streuung)

Proteingehalt Wasserangebot Versuchsgruppe	15 % ad libitum I	15 % 5 ml/24 h I lim.	30 % ad libitum II	30 % 5 ml/24 h II lim.	60 % ad libitum III	60 % 5 ml/24 h III lim.
H ₂ O-Aufnahme in g pro Tier und Tag	n $\bar{x}$ s	20 18,38 4,47	25 5,0 -	20 19,10 3,60	25 5,0 -	15 5,0 -
Futteraufnahme (Proteinaufnahme) in g pro Tier und Tag	n $\bar{x}$ s	20 12,42(1,86) 2,90	25 9,35(1,40) 0,85	20 11,17(3,35) 1,83	25 8,71(2,61) 2,27	15 4,89(2,93) 0,53
Urinausscheidung in g pro Tier und Tag	n $\bar{x}$ s	20 7,83 3,26	25 2,10 0,30	20 8,13 1,88	25 2,24 0,54	15 3,63 0,36

Tabelle 4: Organengewichte in g (bzw. mg) pro 100 g Körpergewicht (KG) für Leber, Nieren, Nebennieren unter den auf Seite 4 geschilderten Versuchsbedingungen, (n = Anzahl der Messungen, $\bar{x}$ = arithmetischer Mittelwert, s = Streuung, t = Wert der STUDENT-Verteilung)

Proteingehalt Wasserangebot Versuchsgruppe	15 %		15 %		30 %		30 %		60 %	
	ad libitum I		5 ml/24 h I lim.		ad libitum II		5 ml/24 h II lim.		ad libitum III	
Leber in g	n	4	5	5	4	4	5	5	5	3
pro 100 g KG	$\bar{x}$	3,4650	3,3880	3,3880	4,0625	4,0625	3,3320	3,3320	3,7440	2,810
	s	0,0510	0,2236	0,2236	0,4886	0,4886	0,2354	0,2354	0,2335	0,4651
	$\hat{t}_{0,01}^*$	**	0,53 < $t_{0,01}$	**	2,99 < $t_{0,01}$	**	0,39 < $t_{0,01}$	3,88 > $t_{0,01}$	2,31 < $t_{0,01}$	** 2,44 < $t_{0,01}$
	$t_{0,01}^*$	-	-	-	7,43 > $t_{0,01}$	7,43 > $t_{0,01}$	0,39 < $t_{0,01}$	0,39 < $t_{0,01}$	2,31 < $t_{0,01}$	** 2,44 < $t_{0,01}$
Nieren (re+li) in g	n	4	5	5	4	4	5	5	5	3
	$\bar{x}$	0,5925	0,690	0,690	0,6675	0,6675	0,8820	0,8820	0,8120	0,990
pro 100 g KG	s	0,010	0,10	0,10	0,0346	0,0346	0,0632	0,0632	0,0539	0,10
Nebennieren (re+li) in mg	n	4	5	5	4	4	5	5	5	3
	$\bar{x}$	22,0	25,8	25,8	26,0	26,0	30,5	30,5	27,6	36,0
pro 100 g KG	s	0,245	0,265	0,265	0,224	0,224	0,469	0,469	0,173	0,30

* Der zweite angegebene $\hat{t}_{0,01}$ -Wert bezieht sich bei den Gruppen II und III auf den Vergleich zur Kontrollgruppe I bzw. bei den Gruppen II lim. und III lim. auf den Vergleich zur Gruppe I lim.

** Anhand der vorliegenden Stichprobe läßt sich mit der verwendeten Signifikanzwahrscheinlichkeit kein Unterschied feststellen.

Tabelle 5: H_2O -Gehalt der rechten Niere und der Leber

Proteingehalt Wasserangebot Versuchsgruppe		15 % ad libitum I	15 % 5 ml/24 h I lim.	30 % ad libitum II	30 % 5 ml/24 h II lim.	60 % ad libitum III	60 % 5 ml/24 h III lim.
H_2O -Gehalt re. Niere in %	n	4	5	4	5	5	3
	$\bar{x}$	74,93	74,89	71,10	72,62	72,54	74,73
	s	1,65	1,63	2,06	2,56	2,15	1,63
	$\hat{t}_{0,01}$	0,04 < $t_{0,01}$		0,61 < $t_{0,01}$		1,51 < $t_{0,01}$	
	$\hat{t}_{0,01}^*$	-	-	2,90 < $t_{0,01}$	1,67 < $t_{0,01}$	1,82 < $t_{0,01}$	0,13 < $t_{0,01}$
H_2O -Gehalt der Leber	1)	62,11	61,44	66,30	69,40	68,30	66,50
	2)	70,60	68,10	58,80	69,40	68,10	
in % (1-3 Tiere)	3)		66,10		63,30	68,30	

* Der zweite angegebene $\hat{t}_{0,01}$ -Wert bezieht sich bei den Gruppen II und III auf den Vergleich zur Kontrollgruppe I bzw. bei den Gruppen II lim. und III lim. auf den Vergleich zur Gruppe I lim.

** Siehe hierzu Seite 11 - 18.

Abb. 1: Kernvolumen in Abhängigkeit von Nahrungsprotein (%)
und H_2O -Zufuhr
S = Streuung

Abb. 2: Anzahl der Treffer, die auf die Kerne in der Flächeneinheit
fallen (= Kernvolumendichte, %) in Abhängigkeit von Nahrungs-
protein (%) und H_2O -Zufuhr.
S = Streuung

Abb. 3: Variationsstatistische Verteilung der Kernvolumina bei ver-
schiedenem Proteingehalt der Nahrung (%) und ad libitum.
Zufuhr von H_2O .

Abb. 4: Variationsstatistische Verteilung der Kernvolumina bei ver-
schiedenem Proteingehalt der Nahrung (%) und limitierter H_2O -
Zufuhr.

Die Ordinate gibt jeweils die Zahl der Kerne pro Volumeinklasse₃ als
arithmetisches Mittel an, die bei einer Klassenbreite von $20 \mu m$ erfaßt
sind. (zu Abb. 3 u. 4)

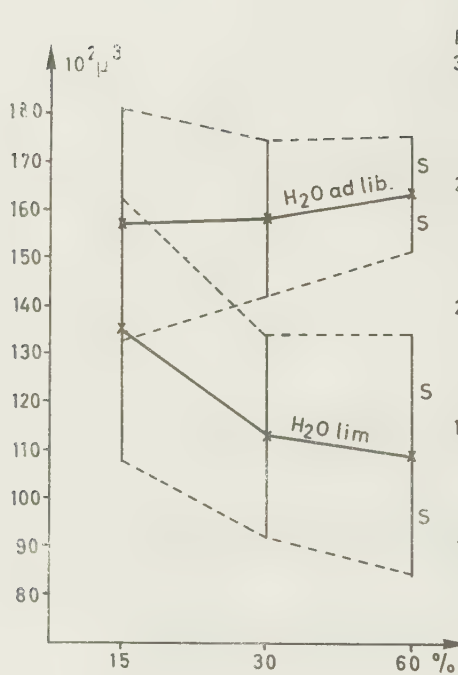


Abb. 1

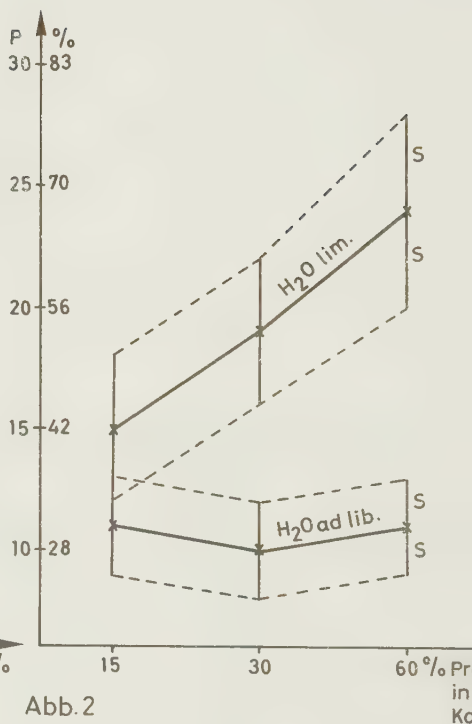


Abb. 2

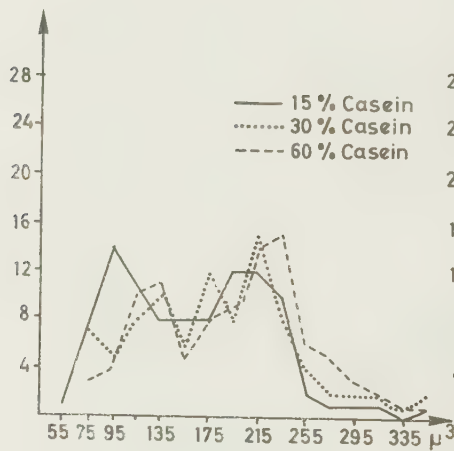


Abb. 3

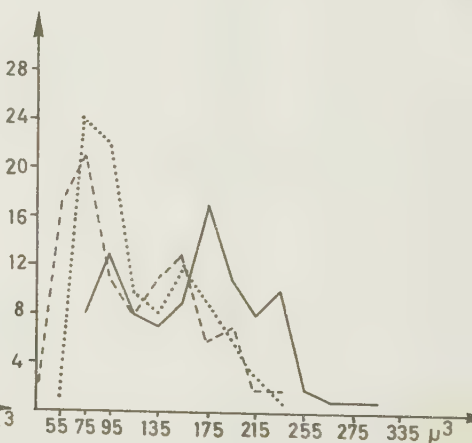


Abb. 4

Abb. 5: Gewichtsveränderungen in g nach 25 Tagen
S = Streuung

Abb. 6: H₂O-Aufnahme in ml pro Tag und Tier
S = Streuung

Abb. 7: Futteraufnahme in g pro Tag und Tier
S = Streuung

Abb. 8: Urinausscheidung in g pro Tag und Tier
S = Streuung

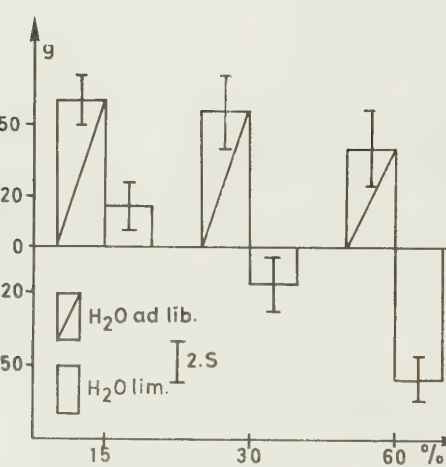


Abb. 5

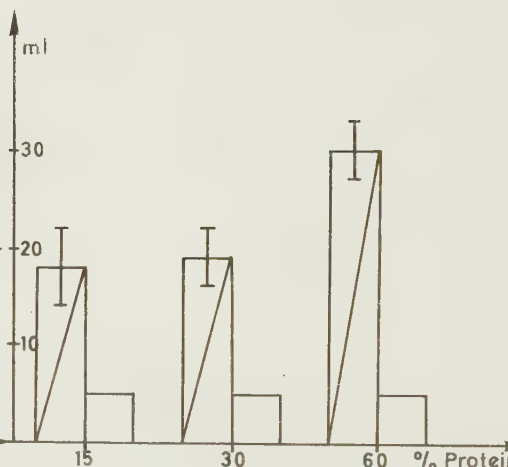


Abb. 6

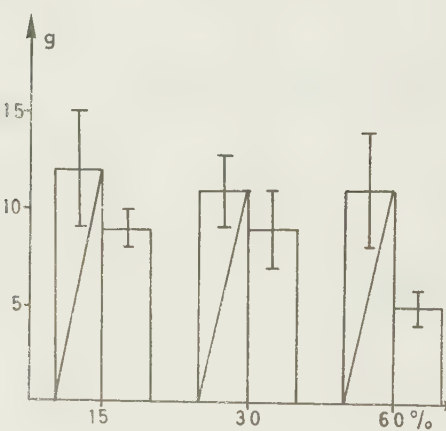


Abb. 7



Abb. 8

Abb. 9: Die tatsächlich aufgenommene Proteinmenge in g bei
verschiedenem Proteingehalt der Nahrung (%) und unter-
schiedlicher H_2O -Zufuhr

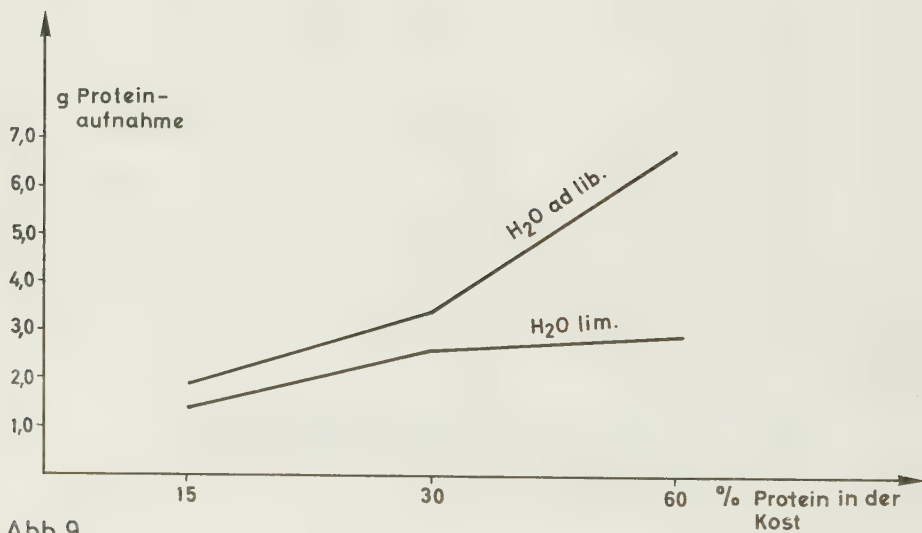


Abb.9

Abb. 10: Lebergewicht in g pro 100 g Körpergewicht
S = Streuung

Abb. 11: Nierengewicht (re + li) in g pro 100 g Körpergewicht
S = Streuung

Abb. 12: Nebennierengewicht (re + li) in mg pro 100 g Körpergewicht
S = Streuung

Abb. 13: H₂O-Gehalt der rechten Niere in %
S = Streuung

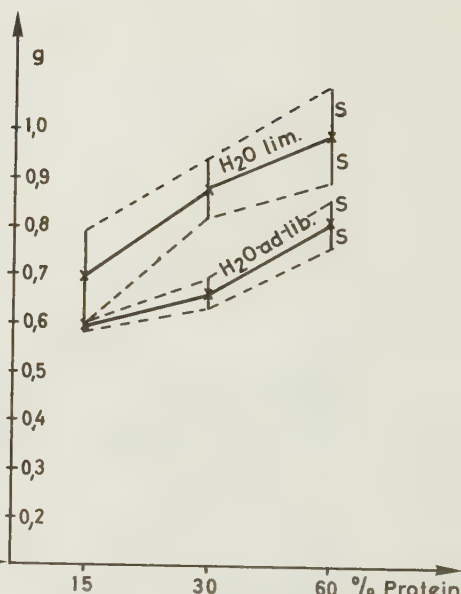
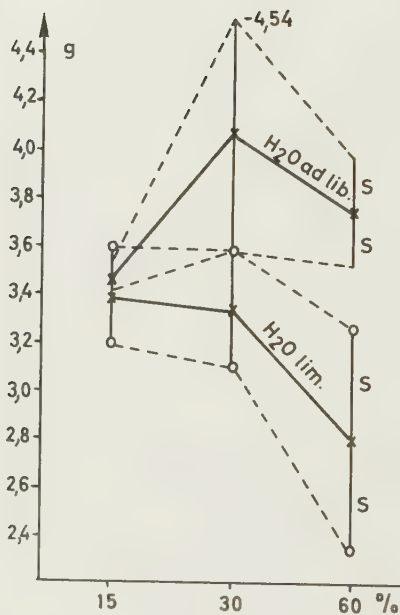


Abb.10

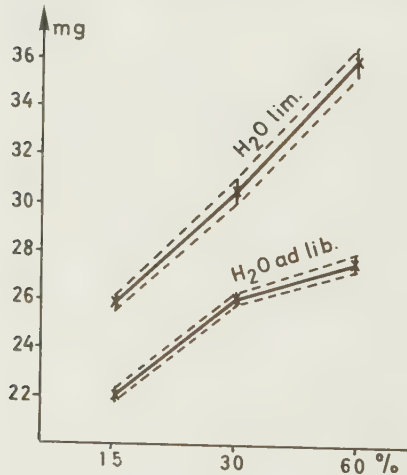


Abb.12

Abb.11

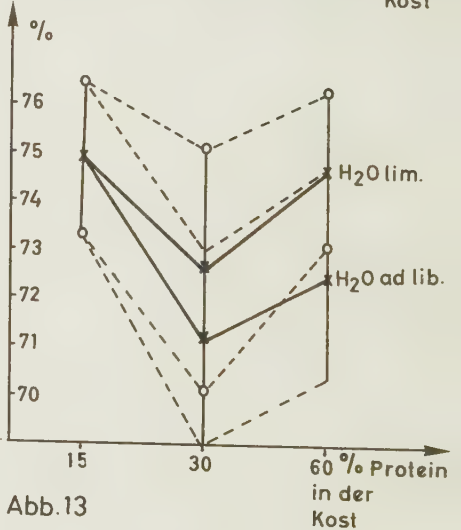


Abb.13

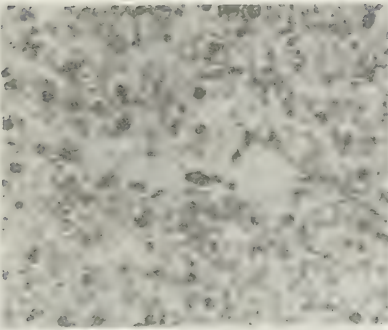


Abb. 14a: 15 % Prot., H_2O ad lib.

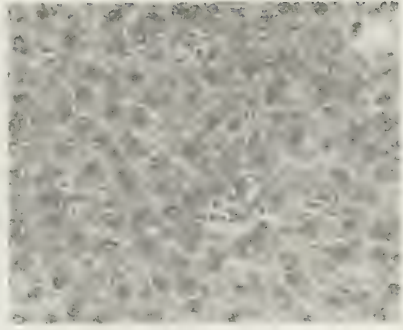


Abb. 14b: 60 % Prot., H_2O ad lib.

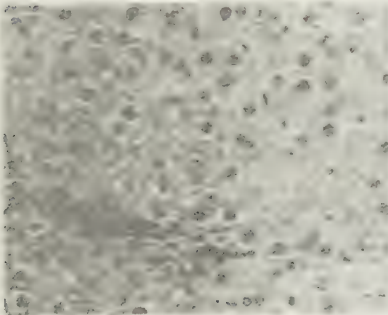


Abb. 14c: 15 % Prot., H_2O lim.

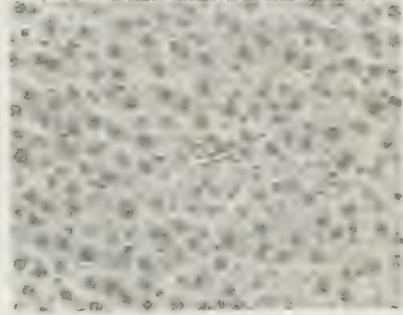


Abb. 14d: 60 % Prot., H_2O lim.

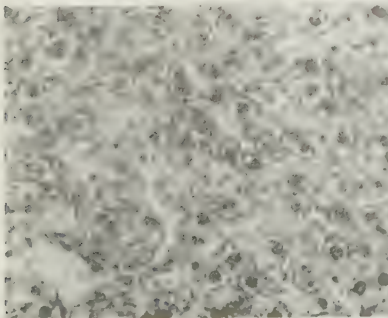


Abb. 14e: 15 % Prot., H_2O ad lib.

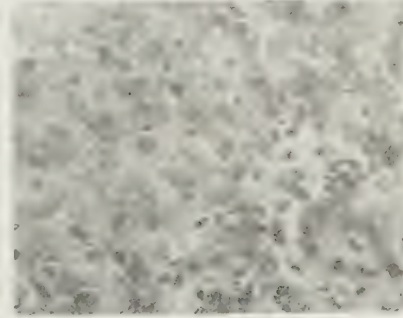


Abb. 14f: 60 % Prot., H_2O ad lib.

Abb. 14a-f: Rattenleber, Periportalregion, Vergrößerung 1:100
a-d: Fixation Bouin, Färbung HOPA; e-f: Fixation Bouin,
Färbung Chromalaun-Gallocyanin.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALTMANN, H.W.: Zur Morphologie der Wechselwirkung von Kern und Cytoplasma.
Klin. Wschr. 33, 306 - 314 (1935)
2. ALVAREZ, M.R.: Karyometric an cytoplasmatic study of hepatocyte nuclei of frogs exposed to cold and prolonged starvation
Zeitschr. f. Zellforsch. 75,1, 240-249 (1966)
3. BENNINGHOFF, A.: Funktionelle Kernschwellung und Kernschrumpfung
Anat. Nachr. 1, 50-51 (1949/50)
4. BERG, W.: Über spezifische in den Leberzellen nach Eiweiß-fütterung auftretende Gebilde
Anat. Anzeiger 42, 251-262 (1912)
5. CALLOWAY, HOWES, D.: Nutritional aspects of the all-purpose survival ration
U.S. Armed Forces Medical Journal 11, 403-417 (1960)
6. CLARK, C. M., GOODLAD, G.A.J., CHISHOLM, J., MUNRO, H. N.: Changes in the levels of ATP and Glykogen in the liver caused by protein administration
Nature 186, 719-720 (1960)
7. COLLIER, G., KNARR, F.: Defense of water balance in the rat
Journal of Comparative and Physiological Psychology 611, 5-10 (1966)
8. CORRIN, B., ATERMANN, K.: The pattern of glycogen distribution in the liver
Amer. Journ. Anat. 122,1, 57-72 (1968)
9. De MAN, J.C.H., BLOK, P.R.: Relationship between glycogen and agranular endoplasmic reticulum in rat hepatic cells
The Journ. of Histochemistry and Cytochemistry 14,2, 135-146 (1965)
10. De HANDT, H.A., ELWI, A.M., SOLIMAN, M.A.: Observations of the binucleate cells of the liver
Nature, 212, 827-829 (1966)

11. DEUTSCH, J. A., JONES, A. D.: Diluted water: An explanation of the rats' preference for saline
Journ. of Comp. and Phys. Psych. 53, 2, 122-127 (1960)
12. DHOM, G.: Leber und Endokrinium aus der Sicht des Morphologen.
In: (Leo Wannagat, ed.) Leber, Endokrinium und H₂O-Haushalt, 5. Lebertagung der Sozialmediziner, Bad Mergentheim 13. - 15. 10. 1967, 15-30, Stuttgart: G. Thieme Verlag 1969
13. DOLJANSKI, P.: The growth of the liver with special reference to mammals
Intern. Rev. Cytol. 10, 217 - 239 (1960)
14. DRAKE, T. G. H., Mc KHANN, C. F., GAMLE, J. L.: Total water and chloride content of dehydrated rats
Journ. of Exper. Med. 51, 867-878 (1930)
15. EULIG, H. G., MOND, W.: Der Einfluß der Fixierung auf das Kernvolumen
Zeitschrift für Mikroskopie 61, 201-209 (1953)
16. FETZER, S., HERRMANN, M., GOSLAR, H. G.: Histochemisches Verhalten einiger Fermentsysteme der Leber unter experimentellen Bedingungen
Verh. anat. Ges. (Jena) 60 Tagg., Erg. heft Anat. Anz., 115, 179-184 (1964)
17. FETZER, S.: Histometrische Untersuchungen an Thecaorganen und Gelbkörpern im Ovarium des Kaninchens und der Ratte
Bonn, Habilitationsschrift (1967)
18. HAAS, H., FETZER, S.: Untersuchungen an der perfundierten Rattenleber
Verh. anat. Ges. (Jena) 65. Vers., S. 319-320
Jena: VEB G. Gischer Verlag (1971)
19. HAUG, H.: Methoden der Strukturzählung. In: (Weibel, R.; Elias, H., eds.) Quantitative Methoden in der Morphologie, S. 62 - 73, Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag (1967)

20. HILLER, G.: Theoretische und methodische Grundlagen der Kernmessung
Zeitschr. Mikr. - Anat. Forsch. 72, 317-343 (1965)
21. HOBIK, H. P., HOBIK, E., GRUNDMANN, E.: Interferenzmikroskopische und cytophotometrische Untersuchungen an Zellkernen von Rattenlebern nach Hunger und Wiederfütterung
Beitr. path. Anat. 137, 184-202 (1968)
22. HODES, H. L.: Effect of high protein diet on dehydration
Am. Journ. Diseases of Children, 52, 751 (1936)
23. IYPE, P. T., BHARGAVA, P. M.: Some aspects of the chemical and cellular composition of adult rat liver
Exp. Cell Res. 40,2, 233-251 (1965)
24. JACOBJ, W.: Die verschiedenen Arten des gesetzmäßigen Zellwachstums und ihre Beziehung zu Zellfunktion, Umwelt, Krankheit, maligner Geschwulstbildung und innerem Bauplan
Wilh. Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 141, 584-692 (1942)
25. JUCKER, P.: Der Einfluß verschiedener Ernährung auf die Morphologie und das Verhältnis von Plasma- zu Kernstickstoff der Rattenleber
Zeitschr. für Zellforsch. 25, 769-775 (1936)
26. KOSTERLITZ, H. W.: The effects of changes in dietary protein on the composition and structure of the liver cell
J. Physiol. 106, 194-210 (1947)
27. KRÜCK, F.: Leber und H_2O -Haushalt unter Berücksichtigung des Aldosterons. In: (Leo Wannagat, ed.) Leber, Endokrinium und H_2O -Haushalt, 5. Lebertagung der Sozialmediziner, Bad Mergentheim, 13.-15.10. 1967, 67-81
Stuttgart: G. Thieme Verlag (1969)
28. KÜHNAU, J.: Biochemische Analyse der Beziehungen zwischen Leber und H_2O -Haushalt
In: (Leo Wannagat, ed.) Leber, Endokrinium und H_2O -Haushalt, 5. Lebertagung der Sozialmediziner, Bad Mergentheim, 13. - 15.10. 1967, 67-81
Stuttgart: G. Thieme Verlag (1969)

29. LAGERSTAEDT, St.: Cytological studies on the protein metabolism of the liver in rat
Acta Anat. Vol. 7 Suppl. 9, 1 - 116 (1949)
30. LAPF, H.: Die submikroskopische Organisation der Leberzelle
Mü. Med. Wschr. 105, 1-12 (1963)
31. LEPKOVSKY, S., LYMAN, R., FLEMING, D., NAGUMO, M., DIMICK, M.M.: Gastrointestinal regulation of water and its effect on food intake and rate of digestion
Amer. J. Physiol. 188, 327-331, (1957)
32. LEUTHARDT, F.: Lehrbuch der Physiologischen Chemie
Berlin: W. D. Gruyter u. Co. (1961)
33. LOUD, A.V.: A quantitative stereological description of the ultrastructure of normal rat liver parenchymal cells
Journ. Cell. Biol. 37, 1, 27-46 (1968)
34. v. MAYERSBACH, H.: Studien an der Leber der Maus nach parenteraler Eiweißzufuhr
Zeitschr. für Zellforsch. 45, 483-516 (1956)
35. MUNRO, H.N.: General aspects of the regulation of protein metabolism by diet and hormones.
In: Mammalian protein metabolism (H. N. Munro and I. B. Allison, eds.) Vol. I, 381-481
New York: Academic Press Inc. (1964)
36. OEHLERT, W., SCHULTZE, B.: Die Kerngröße als Ausdruck der synthetischen Aktivität des Kerns
Beitr. zur path. Anat. 123, 101-113 (1960)
37. PEARSE, A.G.E.: Histochemistry Theoretical and Applied
London: J. and A. Churchill Ltd. (1960)
38. PETERS, Th.: Vitalfluoreszenz und Histochemie unter besonderer Berücksichtigung der Aufnahme von Eiweiß in Zellplasma und Zellkern
Acta Histochemica 4, 250 - 259 (1957)
39. PETERS, Th.: Über Rückresorption von Serumeiweiß in der Säugerniere
Morpholog. Jahrb. 91, 2, 273-281 (1951)

40. PODLAHA, M.: On the statistical distribution of volumes of cell nuclei and DNA amounts in the cell nuclei
Histochemie 3, 495 - 499 (1963)
41. PFUHL, W.: Handbuch der Mikroskop. Anat. des Menschen
V 2, Die Leber, 235-425 (W. Möllendorff, ed.)
Berlin: J. Springer Verlag (1932)
42. POPPER, H., SCHAFFNER, F.: Die Leber, Struktur und Form
Stuttgart: G. Thieme Verlag (1961)
43. RAPPAPORT, A. M.: Betrachtungen zur Pathophysiologie der Leberstruktur. In: (Rouiller, Ch., ed.) The liver, Morphology, Biochemistry, Physiology I, 266-320
New York and London: Academic Press Inc. (1963)
44. REITH, A., SCHÜLER, B., VOGELL, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchung zur Struktur des Leberläppchens normaler Ratten
Zeitschr. für Zellforsch. 89, 2, 225-240 (1968)
45. ROUILLER, Ch.: The Liver, Morphology, Biochemistry, Physiology I
New York and London: Academic Press Inc. (1963)
46. SACHS, L.: Statistische Methoden
Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag (1970)
47. SEILER, N., WERNER, G., FISCHER, H. A., KNÖTGEN, B., HINZ, H.: Beziehungen zwischen Polyaminen und Nucleinsäuren I. Der Einfluß von Nahrungsentzug, Phenobarbital und Perfluorbuttersäure auf den Nucleinsäuren-, Spermin- und Spermidin Gehalt der Mäuseleber
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 350, 676-682 (1969)
48. SITTE, H.: Morphometrische Untersuchungen an Zellen
In: (Weibel, R., Elias, H., eds.) Quantitative Methoden in der Morphologie, 167-198
Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag (1967)
49. STAMM, D.: Die Beurteilung klinisch chemischer Analyseergebnisse
Manuskript aus dem Max Planck-Inst. für Psychiatrie, Abt. für klinische Chemie, München (1969)

50. STÖCKER, E.: Funktionelle und pathologische Kernschwellung der Leber von Ratten nach Thioacetamidfütterung
Zeitschr. für Zellforsch. 62, 80-97 (1964)
51. STRYDOM, N.B., van GRAAN, C.H., VILJOEN, J.H., BENADE, A.J.S.:
Physiological performance of men subjected to different water regimes over a two day period
South African Journ. of Laboratory an Clinical Medicine 14, 92-95 (1968)
52. TONGIANI, R., PUCCINELLI, A.: Existence of hepatic cell classes and their relationship with the nuclear classes in the liver of the white mouse.
A microinterferometric study
Histochemie 21, 33-53 (1970)
53. WALLRAFF, J.: Handbuch der Mikroskop. Anatomie des Menschen V, Die Leber, 1-251 (W. Bargmann, ed.),
Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag (1969)
54. ZANGLI, M.: Histological and ultrastructural alterations of the hepatic cells in rats fasting for 24 hours
Chir. Pat. Sper. 16,1, 60-70 (1968)

Herrn Priv. Doz. Dr. FETZER bin ich für Anregung und Überlassung des Dissertationsthemas sehr dankbar.

Herrn Professor Dr. OKSCHE danke ich sehr, daß er mir nach dem Tod von Priv. Doz. Dr. Fetzner die Fertigstellung der Dissertation ermöglichte.

Für freundlichen Rat bei der Gestaltung der Arbeit danke ich Frau Prof. REHNER, Herrn Dr. PETERS und Herrn Dr. ZIMMERMANN.

Fräulein BAYER danke ich für die Hilfe bei der Anfertigung der histologischen Präparate.

LEBENS LAUF

Am 17. 8. 1942 wurde ich, Georg Wilhelm Juncker, als viertes Kind meiner Eltern, Amtsgerichtsrat Heinz Juncker und seiner Ehefrau Gerda geb. Lange, in Vietz/Ostbahn geboren. Von hier vertrieben wohnte meine Familie nach dem 2. Weltkrieg zunächst in Estedt, Kreis Gardelegen. Seit 1951 haben wir unseren Wohnsitz in der Bundesrepublik und zwar in Diez/Lahn. Nach dem Besuch verschiedener Grundschulen wurde ich Schüler des humanistischen Gymnasiums in Limburg/Lahn. An dieser Oberschule bestand ich 1963 die Reifeprüfung. Anschließend diente ich 2 Jahre in der Bundeswehr, aus der ich im Range eines Leutnants der Reserve entlassen wurde. Von 1965 an studierte ich Medizin an den Universitäten Gießen und Wien. Im Januar 1971 bestand ich in Gießen das Medizinische Staatsexamen. Die Pflichtassistentenzeit leistete ich an der LVA Heilstätte in Gießen und im Behring Krankenhaus in Berlin-Zehlendorf. Nach einer 3monatigen Tätigkeit als vorl. Stabsarzt der Bundeswehr bin ich zur Zeit als Assistent auf der inneren Abteilung des Marienkrankenhauses in Soest beschäftigt.

FOTO-DRUCK LENZ • 63 Gießen • Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641 - 77449